Seinem verehrten Freund
Herrn Prof. Dr. R. A. Harper
vom Verf. überreicht.

Ueber das Verhalten der Kerne

bei der

Entwickelung des Embryosacks

und

die Vorgänge bei der Befruchtung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

bei der

hohen philosophischen Facultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn

eingereicht und mit den beigefügten Thesen vertheidigt

am 7. Juli 1897

von

David M. Mottier

aus Bloomington, Ind., U. S. A.

Opponenten:

Max Koernicke, Dr. phil.
Heinr. Konen, stud. phil.
Adolf Hof, stud. phil.

Berlin 1897.

Gebrüder Borntraeger.

Ueber das Verhalten der Kerne

bei der

Entwickelung des Embryosacks

und

die Vorgänge bei der Befruchtung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

bei der

hohen philosophischen Facultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn

eingereicht und mit den beigefügten Thesen vertheidigt

am 7. Juli 1897

von

David M. Mottier

aus Bloomington, Ind., U. S. A.

Opponenten:

Max Koernicke, Dr. phil.
Heinr. Konen, stud. phil.
Adolf Hof, stud. phil.

Berlin 1897.

Gebrüder Borntraeger.

Digitized by the Internet Archive
in 2014

https://archive.org/details/ueberdasverhalte00mott

I. Die Entstehung der Embryosackmutterzelle und die Theilung des primären Kerns.

Meine cytologischen Studien an höheren Pflanzen dehnte ich im Laufe des letzten Jahres auch auf den Embryosack aus.

Lilium Martagon, L. candidum, L. umbellatum, Helleborus foetidus und *Podophyllum peltatum* lieferten das Untersuchungsmaterial.

Die Methode der Untersuchung war dieselbe, welche ich in meiner früheren Arbeit[1]) anwandte, so dass ich auf letztere betreffs näherer Angaben über die technische Behandlung des Materials verweise.

Wie bekannt, unterscheidet sich die Mutterzelle des Embryosacks von *Lilium Martagon* von ihren Nachbarzellen durch ihren grösseren Umfang und die Dichtigkeit ihres cytoplasmatischen Inhalts, welcher zunächst fast gleichförmig erscheint. Während der weiteren Entwickelung der jungen Samenanlage nimmt die Mutterzelle immer mehr an Grösse zu, so dass sie zur Zeit, wo das innere Integument erscheint, fast den ganzen Nucellus einnimmt. Gewöhnlich tritt jetzt, oder auch wohl schon auf einem früheren Entwickelungszustande, eine auffallende Differenzirung im Cytoplasma auf. Neben der wie gewöhnlich netzwabigen Structur kann man dicke Stränge oder Fäden bemerken, deren Orientirung in

1) Mottier, Beiträge zur Kenntniss der Kerntheilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen und Monokotylen. Jahrb. f. wiss. Botanik, Bd. XXX, Heft 2, 1897.

verschiedenen Embryosackmutterzellen desselben Entwickelungsstadiums nicht übereinzustimmen braucht. Manchmal bilden diese Fäden eine Art Filz oder eine dichtere Zone im Umkreis des Kerns (Fig. 1, Taf. II), manchmal treten sie als deutlich sichtbare Massen von dicken, fast parallel verlaufenden Fäden im oberen oder unteren Ende der Zelle hervor, oder sie laufen auch wohl vom Kern aus in einer oder in mehreren Richtungen strahlig nach aussen. In der Fig. 3, Taf. II umstrahlen einige dieser Stränge oder Fäden den Kern, während andere im unteren Ende der Zelle zu einer besonderen Gruppe vereinigt sind. Auch lassen sich Fälle beobachten, in welchen der grössere Theil des Cytoplasmas von ähnlichen, relativ dicken Fäden, welche parallel der Längsachse der Zelle verlaufen, aufgebaut ist. Wie die Fig. 1, Taf. II zeigt, kann der Filz um den Kern aus sehr feinen Fäden zusammengesetzt sein, welche sich in diesem Stadium wie das übrige Cytoplasma färben. In anderen Fällen wiederum und bei einem etwas weiter vorgeschrittenen Entwickelungsstadium besteht diese Zone aus netzwabigem Cytoplasma mit relativ grossen Maschen (Fig. 2, Taf. II). Jeder dicke Strang oder Faden scheint aus mehreren kleineren und feineren aufgebaut zu sein.

Diese eigenthümliche Differenzirung des Cytoplasmas ist mehr oder weniger deutlich zu sehen auf dem in Frage stehenden Entwickelungsstadium des Embryosacks von *L. Martagon*, *L. candidum* und *L. umbellatum*. Bei der letztgenannten Species bilden die dicken Fäden auf einem viel jüngeren Entwickelungsstadium meist eine sehr deutlich abgesetzte Masse in dem oberen Ende der Zelle.

Dixon[1]) scheint ähnliche cytoplasmatische Structuren, welche er bei *Lilium longiflorum* beobachtete, als Spindeln angesehen zu haben, was sie sicherlich nicht sind.

Auf einem wesentlich späteren Entwickelungsstadium beginnt diese cytoplasmatische Differenzirung zu verschwinden.

Zur Zeit, wo der Kern in das lockere Knäuelstadium eingetreten ist, und weiterhin, wenn der Chromatinfaden in seine zwölf Chromosomen zerfallen ist, zeigt das Cytoplasma eine gleichförmigere, netzwabige Structur. Viele Fälle konnten beobachtet werden, in welchen gar keine deutlich ausgesprochene Differenzirung im Cytoplasma vorhanden zu sein schien, andere wiederum, die Spuren der

1) Dixon, On the Chromosomes of *Lilium longiflorum*. Proceedings of the Royal Irish Academy, 3rd Ser., 10: No. 4, p. 716.

zuvor geschilderten Differenzirung aufwiesen, doch stets mit feinerer Ausbildung der einzelnen Bestandtheile.

Ob in den Zellen, welche eine solche Differenzirung später nicht zeigten, dieselbe in einem früheren Stadium vorhanden gewesen war, liess sich nicht ermitteln.

Die Grundmasse des Cytoplasmas in der Embryosackmutterzelle und später im Embryosack selbst zeigt sehr schön dieselbe netzartige Structur, wie sie für die Pollenmutterzellen früher beschrieben wurde, manchmal aber auch, und das besonders in älteren Embryosäcken, einen netzwabigen Aufbau.

Schon von Anfang an ist der Kern sehr gross im Verhältniss zur Grösse der ihn einschliessenden Zelle. Er besitzt ein sehr feines Netzwerk von Lininfäden, welche äusserst kleine Körnchen enthalten und weist gewöhnlich mehrere grosse Kernkörperchen auf. Hier und da treten in den Lininfäden des Netzwerks Ansammlungen von Körnchen auf, die sich gerade wie Chromatin färben, aber viel stärker das Safranin aufnehmen und zurückhalten, als die später in die Erscheinung tretenden Chromatinscheiben. Die kleinen in die Lininfäden eingelagerten Körnchen erscheinen beinahe farblos oder besitzen eine blassblaue Färbung, wenn die erwünschte Differenzirung in den übrigen Zellbestandtheilen erreicht ist (Fig. 1, Taf. II). Die Nucleolen enthalten entweder nur einige wenige ziemlich grosse, oder zahlreiche kleine Vacuolen.

Mit dem weiteren Anwachsen der Embryosackmutterzelle nimmt auch der Kern in gleichem Masse an Umfang zu, jedoch steigert sich die Chromatinmenge desselben langsamer. Das Liningerüst hat sich bald in den definitiven Kernfaden umgewandelt, welcher stets kleine unregelmässige Körnchen einschliesst (Fig. 2, 3, Taf. II). In diesem Stadium findet man auch viele kugelige Körper an dem Kernfaden vertheilt, welche sich wie die Nucleolen färben. Die weitere Entwickelung des Chromatinfadens, seine Längsspaltung und Segmentirung in die einzelnen Chromosomen, vollzieht sich in ganz derselben Weise, wie bei der ersten Kerntheilung in den Pollenmutterzellen[1]). Das „amorphous chromatin", wie es von Miss Sargant[2]) beschrieben wurde, ist ein Kunstproduct.

Es mag noch die Bemerkung folgen, dass der Kernfaden

---

1) Mottier, l. c.

2) Ethel Sargant, The Formation of the Sexual Nuclei in *Lilium Martagon*. Ann. of Bot., 10, p. 453, 1896.

während der Wachsthumsperiode und zwar in jenen Stadien, die zwischen dem Zustand, in welchem er noch sehr dünn scheint, und jenem, wo er in die einzelnen Chromosomen zerfallen ist, liegen, stets sehr empfindlich gegen Reagentien ist; er zieht sich bei Einwirkung derselben mehr oder weniger stark zusammen und bildet Klumpen. Während derselben Periode nimmt der Kern sehr schnell an Grösse zu, und verliert seine Membran dabei ihre scharfe Umgrenzung, ohne dass man aber von einem theilweisen Verschwinden derselben reden könnte[1]). In diesem Stadium ist das Cytoplasma der Mutterzelle sehr schwer zu fixiren, und man findet häufiger in den Präparaten Kunstproducte als normal und gut erhaltene Structuren vor.

Zur Zeit der Längsspaltung, oder auch schon etwas früher oder später kann man, falls das feine Kerngerüst etwas contrahirt, einseitig in der Kernhöhle liegt, den freien Raum derselben von sehr feinen, fast farblosen Fäden durchzogen sehen. Diese Fäden zeigen sich mit sehr kleinen Körperchen besetzt, die sich gerade so, wie die Metaplasmakörnchen im Cytoplasma färben. Wenn man die zarte Natur der Kernwandung und die Gegenwart von Diffusionsströmen, welche jedoch die Reagentien hervorgerufen haben, in Betracht zieht, so erscheint es nicht unwahrscheinlich, dass diese Substanz vom Cytoplasma aus eingeführt worden sein könnte; doch könnte dieselbe auch durch einen Niederschlag aus dem Kernsafte entstanden sein.

Die Chromosomen, in welche der Chromatinfaden zerfiel, liegen theils an der Kernwandung, theils unregelmässig zerstreut in der Kernhöhle. Nicht selten sind mehrere um das oder um die Kernkörperchen gruppirt. In wie weit diese Anordnung normal ist oder durch die Reagentien bewirkt wurde, konnte nicht entschieden werden.

Die einzige Schilderung der Entstehung der ersten Kernspindel im Embryosack, die sich in der Literatur fand, hat Guignard[2]) gegeben. Nach diesem Verfasser nimmt die Kernspindel ihren Ursprung hauptsächlich aus zwei „sphères directrices", welche an direct entgegengesetzten Seiten des Kernes liegen. „Quelque temps après la formation des segments chromatiques, les deux sphères directrices

1) Sargant, l. c., p. 456.

2) Guignard, Nouvelles études sur la fécondation. Ann. des sciences naturelle Botanique, 7 série, T. XIV, p. 184, 1891.

entrent en activité. Des stries cytoplasmiques se montrent autour d'elles, puis elles s'écartent l'une de l'autre pour aller se placer en opposition, de façon à occuper l'axe longitudinal de sac embryonnaire Quand les sphères ont pris cette position, les stries qu'on observait auparavant sur toute la surface du noyau disparaissent pour augmenter, au contraire, autour des sphères. Dès lors, les asters, qu'on apercevra plus tard aux pôles du fuseau achromatique occupés par les sphères, sont partiellement différenciés. Comme ces dernières sont encore au contact de la membrane nucléaire (l. c., Fig. 48), les stries n'existent par tout autour de leur zone hyaline."

„Les asters ne se complètent aux pôles du fuseau futur qu'après la résorption de la membrane. Cette résorption se produit d'abord au voisinage des sphères, par conséquent en deux points opposés (l. c., Fig. 50). Les stries se montrent bientôt plus nombreuses du côté du noyau; elles s'avancent d'un pôle à l'autre, à travers la cavité, et l'on en voit déjà un certain nombre s'étendre sans discontinuité d'une sphère à l'autre alors que la membrane nucléaire n'est résorbés qu'au voisinage des pôles et existe encore jusqu'au contact des asters. A ce stade, l'on retrouve parfois un reste de nucléole à peine colorable."

Auf Grund meiner Untersuchungen kann ich hingegen auf das Bestimmteste versichern, dass ebenso wenig wie in den Pollenmutterzellen, auch in der Embryosackanlage Centrosphären vorhanden sind.

Wie in den Pollenmutterzellen sind auch in der Embryosackanlage die Spindelfasern fast vollständig cytoplasmatischen Ursprungs, doch trägt das Linin innerhalb der Kernhöhle auch zur Bildung derselben bei. Die Anordnung der Kinoplasmafasern um den Kern herum kann, bevor die Kernwandung verschwindet, gewisse Verschiedenheiten aufweisen. In einigen Fällen, die ich beobachten konnte, verlaufen diese Kinoplasmafasern fast gleichmässig in Strahlen vom Kern aus, in andern zeigen sie die Tendenz, auf der Chalaza und Mikropylenseite sich in grösseren Mengen anzusammeln, oder sie können einen mehr oder weniger unregelmässigen Filz um den Kern herum bilden.

Bei dem Verschwinden der Kernwandung dringen diese Kinoplasmafasern in die Kernhöhle ein, wobei ein Spindelfasercomplex mit sehr vielen Polen entsteht, in welchem die Chromosomen unregelmässig angeordnet liegen (Fig. 4, Taf. II). Die Spindelfasern tingiren sich violett. Diese und die purpurrothen Chromosomen bilden einen auffallenden Gegensatz zu der Färbung des umgebenden

Cytoplasmas. Manchmal liegt noch ein verhältnissmässig grosses Kernkörperchen in oder nahe beim Spindelfaserkomplex. Häufig zeigt in diesem Stadium das Cytoplasma ein so lockeres Aussehen, dass man auf seinen grossen Wasserreichthum im frischen Zustand schliessen möchte. Sehr allgemein finden sich Körnchen, welche begierig Orange G. aufnehmen und eine ziemlich breite Zone um die Spindel bilden, wobei sie einen relativ körnchenfreien Raum einschliessen, in welchem die Spindel suspendirt ist. In anderen Fällen war die Körnchenzone weniger deutlich, während im Cytoplasma Körnchen ziemlich gleichmässig verstreut waren. Zarte Fasern erstreckten sich von der vielpoligen Spindel in die Körnchenzone hinein, liessen sich aber nicht immer bis zur Hautschicht verfolgen. Die beiden Segmente eines jeden Chromosoms sind fast immer umeinander gedreht, und gewöhnlich sind die Chromosomen zusammengeklappt wie in der Pollenmutterzelle[1]) (Fig. 4, Taf. II).

Ebenfalls kann man in dem Stadium, welches durch Fig. 4, Taf. II dargestellt wird, an jedem Chromosom ein Bündel Spindelfasern angeheftet sehen. Jetzt macht sich die Bipolarität des Spindelfasercomplexes geltend, und sehr bald ist derselbe in die typische zweipolige Spindel umgewandelt, wobei die Chromosomen regelmässig in der Aequatorialplatte angeordnet werden. Die fertige Spindel, welche hier sehr gross ist, kann zugespitzt sein, aber in diesem Stadium ist sie oft stumpf. An jedem Chromosom sind hier auch zwei stark hervortretende Bündel von Spindelfasern, die „Zugfasern", befestigt, die nach den gegenüberliegenden Polen laufen; andere, die „Leitfasern", laufen von Pol zu Pol, und noch andere divergiren allmählich von Polen aus nach der Aequatorialebene hin. In einigen Fällen treten die letztgenannten Fasern zahlreicher auf in anderen sind nur wenige bemerkbar.

Guignard[2]) hat schon angegeben, dass die Längsachse der ersten Spindel parallel mit der des Embryosackes oder schief oder sogar quer zu derselben liegen kann.

Einige der Formveränderungen, welche an den Chromosomen in den Kerntheilungsfiguren der Pollenmutterzellen uns entgegentraten[3]), konnten auch hier beobachtet werden (Fig. 4 u. 5, Taf. II). Da aber natürlich nicht so viele Spindeln beim Studium des Embryo-

---

1) Mottier, l. c., p. 186.
2) l. c., p. 186.
3) Mottier, l. c., Fig. 25.

sacks angetroffen werden konnten, wie bei denjenigen der Anthere, so waren die Bedingungen zur Beobachtung dieser Variationen weniger günstig.

Die Chromosomen sind an ihrer Umbiegungsstelle an den Spindelfasern befestigt. Wenn die Tochtersegmente sich von einander getrennt haben, besitzt ein jedes die Form eines V, dessen Winkel dem Pol zugekehrt ist. In diesem Stadium (Fig. 6, Taf. II) war die Spindel, wie in allen Fällen constatirt werden konnte, scharf zugespitzt; der eine oder auch beide Pole waren manchmal ungewöhnlich stark verlängert und zu einer schmalen Spitze ausgezogen. Thatsächlich ist die ganze Spindel nach den Polen hin in die Länge gestreckt, und es scheint, als ob sie im Begriffe stände, im Aequator in zwei Hälften getrennt zu werden (Fig. 6, Taf. II), aber eine ganz vollständige Trennung der beiden konischen Spindelhälften war niemals beobachtet worden. Ob diese Erscheinung normal war, oder ob sie durch die Reagentien hervorgerufen wurde, konnte nicht entschieden werden, doch ist hervorzuheben, dass sie auch in Zellen wahrgenommen wurde, deren Fixirung ausserordentlich gut zu sein schien. Aus dem Geschilderten lässt sich leicht ersehen, dass die erste Kerntheilung im Embryosack von *Lilium Martagon* eine heterotypische ist, und dass sie vollständig mit der ersten Kerntheilung in Pollenmutterzellen übereinstimmt.

Nach Guignard besitzen die bei der ersten Kerntheilung auseinander weichenden Tochtersegmente die Form von geraden Stäbchen, welche an einem Ende leicht gekrümmt sein können, während die für Pollenmutterzellen angegebenen U- oder V-Form haben (l. c., Fig. 16). „La division[1]) de la plaque nucléaire," sagt er, „suit la marche bien connue; on peut même ajouter que, dans le cas actuel, elle présente de caractères absolument typiques. Les deux moitiés de chacun des 12 segments s'isolent peu à peu dans toute leur longeur, en s'éloignant en sens opposé vers les pôles et en suivant la direction des files achromatiques. Il arrive un moment où elles ne sont plus en contact que par leurs bouts tournés vers la périphérie (l. c., Fig. 56).

Nur in einem einzigen Falle unter den unzähligen von mir beobachteten Spindeln besassen die Tochterchromosen die Form gerader Stäbchen mit leicht umgebogenem einem Ende. In dieser

1) Guignard, l. c, p. 186.

Spindel konnte ich statt 24 44 Chromosomen zählen. Es lag hier allem Anschein nach ein ungewöhnlicher Fall vor mit ausgebliebener Zahlenreduction der Chromosomen und mit einer gewöhnlichen, an Stelle einer heterotypischen Kerntheilung.

Die Art und Weise, wie der Tochterfaden von den Tochtersegmenten gebildet wird, wenn sie an den Spindelpolen ankommen, konnte nicht deutlich klargelegt werden, da die Chromosomen so dicht aneinander rücken, dass die Form jedes einzelnen verborgen bleibt und eine klumpige Chromatinmasse scheinbar vorliegt. Sobald der Tochterkern mit einer Membran versehen ist, oder auch schon zuvor erscheint der Kernfaden unregelmässig angeordnet und klumpig; bei der weiteren Entwickelung wird er dünner und seine Anordnung regelmässiger. Mehrere Nucleolen treten auf und zwar immer an den Chromatinfäden. Zur selben Zeit kann man auch extranucleare Kernkörperchen durch das Cytoplasma zerstreut sehen.

Die Tochterkerne sind durch einen Verbindungsfadencomplex mit einander verbunden (Fig. 7, Taf. II), deren Fasern in der Aequatorialregion viel dicker sind. Dieser Ansatz zur Bildung einer Zellplatte ist eine constante Erscheinung und kann nach jeder Kerntheilung im Embryosack auftreten. Von jedem Kern verlaufen Kinoplasmafasern in radiärer Richtung, welche sonnenförmige Bilder liefern, sich bis zur Hautschicht hin erstrecken (Fig. 7, Taf. II) und die Spindelfasern zur nächsten Kerntheilung liefern. In dem oberen Ende des Embryosackes (Fig. 7, Taf. II) divergirt ein Büschel von Kinoplasmafasern von der Hautschicht aus. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist hier der Rest eines Spindelpoles, welcher, wie oben erwähnt, in eine lange schmale Spitze ausgezogen sein kann. Das Vorhandensein eines solchen Büschels wurde nur zweimal beobachtet.

Bald macht sich ein sehr bemerkenswerther Unterschied geltend in der Grösse zwischen dem Kern, der nach dem Mikropylenende und dem, der im entgegengesetzten Ende des Embryosacks liegt, wie schon Guignard[1]) sehr richtig gezeigt hat.

Der Einfachheit halber werde ich von dem oder den Kernen, die im Mikropylenende des Embryosacks liegen, als den oberen, und von den im Chalazaende liegenden als den unteren sprechen.

---

1) Guignard, l. c., p. 197.

Der untere Kern wird grösser und sein Chromatinfaden, welcher mehr Windungen zeigt, ist dadurch viel länger als der im oberen Kern. Wir werden später auf diesen Gegenstand zurückkommen.

II. Die zweite Kerntheilung.

Die zweite Kerntheilung im Embryosack folgt sofort auf die erste, ohne dass die Tochterkerne in ein völliges Ruhestadium eingetreten wären. Die Kinoplasmafasern, welche die Verbindungsfäden zwischen den beiden Kernen bilden (Fig. 7, Taf. II), werden auf beiden Seiten von ihrem dickeren äquatorialen Theile losgetrennt. Diese Aequatorialzone kann noch, wenigstens theilweise, sichtbar sein, wenn die nächsten Spindelanlagen angelegt werden; aus ihr wäre die Zellplatte ausgebildet worden, falls eine Zelltheilung auf die Kerntheilung hätte folgen sollen. In einigen Fällen war die erwähnte Aequatorialzone nicht so stark entwickelt, in noch anderen Fällen nichts von ihr zu sehen, und es mag sein, dass die Verbindungsfäden sich im letzten Falle in der Aequatorialregion einfach durchtrennt hatten oder dass sie dort völlig resorbirt worden waren.

Wenden wir jetzt unsere Aufmerksamkeit auf die Bildung der Spindel bei der Theilung des oberen Kernes. Dieselbe ist auffallend verschieden von der ersten heterotypischen Theilung, besonders wenn man das Verhalten des Chromatinfadens in Betracht zieht.

Die Kernwandung als solche verschwindet und die strahlig angeordneten Kinoplasmafasern dringen von allen Seiten in die Kernhöhle ein. Bei dieser Theilung scheint der Chromatinfaden, welcher noch nicht in die einzelnen Chromosomen zerfallen ist, sich mehr oder weniger gegen die Mitte der Kernhöhle zusammengezogen zu haben, wo er als ein sehr dicht verschlungener Knäuel zu sehen ist. Die Contraction des Knäuels wird möglicher Weise durch die in die Kernhöhle eindringenden Kinoplasmafasern verursacht. Auch sind Kernkörperchen bemerkbar, welche an dem Chromatinfaden ansitzen. In Fig. 8, Taf. II. welche das in Frage stehende Stadium darstellt, sind nicht alle Kinoplasmafasern in die Kernhöhle eingedrungen, und man kann die Stelle der früheren Kernwandung noch sehen; die Kernwandung als solche ist jedoch nicht mehr zu erkennen, und die Annahme scheint Berechtigung

zu haben, dass dieselbe in Spindelfasern umgewandelt wurde. Diese Anschauung lässt sich sehr wohl mit der Vorstellung vereinigen, welche ich in meiner letzten Arbeit[1]) in Betreff der Kernwandung darlegte, nämlich dass sie aus Kinoplasma bestehe[2]).

Der ganze Complex der Spindelfasern bildet jetzt eine zusammenhängende, vielpolige Spindel, in welcher aber die einzelnen Pole viel weniger deutlich erscheinen als in der vorhergehenden heterotypischen Theilung. Die vielpolige Spindel wandelt sich sehr bald in die typische bipolare um, welche zuerst sehr zugespitzt sein oder auch stumpf bleiben kann. Wie schon erwähnt wurde, ist auf den durch Fig. 8, Taf. II dargestellten Stadien der Kernfaden noch continuirlich. In der Figur selbst sind die freien Enden nur durchschnittene Stellen. Auch wurde zur Darstellung ein Fall gewählt mit besonders lockerer Windung des Knäuels. Die Segmentirung des Knäuels erfolgt erst nach Fertigstellung der Spindel, ein Verhalten, das mich zunächst in Erstaunen versetzte. So ist in dem Stadium der Fig. 9, Taf. II die Segmentirung noch nicht vollendet. Der Kernfaden ist alsdann dicker als in dem in Fig. 8, Taf. II dargestellten Stadium geworden, und es ist jetzt deutlich zu sehen, dass er eine Längsspaltung erfahren hat, und dass seine beiden Schwester-Segmente mehr oder weniger umeinander gedreht sind. Von einer Längsspaltung des Kernfadens vor Auflösung der Kernwandung konnte ich mich bei diesem Theilungsschritt nicht überzeugen, doch ist anzunehmen, dass dieselbe aus irgend einer Ursache mir verborgen blieb.

Die längeren Strecken des nicht segmentirten Chromatinfadens und die schon getrennten Chromosomen liegen gewöhnlich an der Spindel oder innerhalb ihrer Fasern, parallel zu deren Längsachse. Die Kernfadenstücke sind nicht immer so regelmässig vertheilt wie in Fig. 9, Taf. II, sondern können gedreht und knotig verschlungen sein. Wenn die Chromosomen alle zur Aequatorialplatte angeordnet sind, so stehen sie meistens in rechten Winkeln zu der Längsachse der Spindel. Jedes Chromosom besteht aus zwei Theilen, die umeinander gedreht sind, und ist gewöhnlich etwas gebogen; mit einem Ende ist es an den Spindelfasern angeheftet (Fig. 11, Taf. II).

---

1) l. c., p. 174.

2) Strasburger, Kerntheilung und Befruchtung bei *Fucus*. Jahrb. f. wiss. Botanik, Bd. XXX, p. 358, 1897.

Die Spindelfasern haben dieselbe Anordnung wie bei der ersten Kerntheilung. Beide Kerne theilen sich simultan, wobei die Spindeln ganz auf dieselbe Weise entstehen. Was das Chromatin anbetrifft, so findet sich der auffallende Unterschied, der schon von Guignard[1]) und anderen[2]) bemerkt worden war, dass nämlich der untere Kern viel mehr Chromosomen enthält als der obere, welcher unverändert zwölf aufweist. Guignard hat 16, 20 oder 24 gefunden. Ich habe bis ungefähr 30 gezählt, doch gewöhnlich sind 20—24 vorhanden. Die Fig. 9 und 10, Taf. II, wurden demselben Embryosack entnommen. In Fig. 10, Taf. II ist der Kernfaden nicht gänzlich in Chromosomen zerlegt, und dass derselbe sich der Länge nach gespaltet hat, scheint die einzige Annahme zu sein, die sich durch directe Beobachtung stützen lässt. Wir wollen auf die Chromosomen späterhin nochmals zurückkommen.

Während der Metakinese werden die Enden der Segmente, an welchen die Spindelfasern befestigt sind, auseinander gezogen (Fig. 12, Taf. II); die Segmente stellen sich annähernd senkrecht zur Spindel, später, wenn sie völlig getrennt sind, liegen sie ihr parallel an. Jedes Segment stellt ein gerades, an einem Ende gewöhnlich etwas gekrümmtes oder gebogenes Stäbchen dar (Fig. 13, Taf. II). Fig. 13 und 14, Taf. II zeigen Schnitte von der Spindel des oberen und des unteren Kernes in demselben Stadium der Entwickelung. Die Spindeln bei dieser Theilung sind in diesem Entwickelungsstadium in der Richtung der Längsachse gestreckt. Diese Thatsache scheint anzuzeigen, dass eine beträchtliche Zugkraft erforderlich ist, um die Chromatinsegmente von einander zu trennen, und dass, wenn alle getrennt sind, was gewöhnlich zu gleicher Zeit geschieht, der von ihnen geleistete Widerstand abgenommen hat und durch die Spannung der Zugfasern plötzlich die beiden Spindelhälften etwas polwärts gezogen werden (cf. auch Fig. 6, Taf. II). Ob dem wirklich so ist, mag dahingestellt bleiben.

Die Bildung der vier Kerne erfolgt auf dem gewöhnlichen Wege. Bald nachdem die Chromosomen die Pole erreicht haben, sind die Kernanlagen oft in einer Zickzacklinie angeordnet. Die Kernanlagen werden miteinander durch eine Zahl dicht nebeneinander liegender Verbindungsfäden verbunden, die sich tief violett

1) l. c., p. 187.
2) Sargant, l. c.

färben, während in diesem Stadium relativ wenige Fasern in das Cytoplasma ausstrahlen. Später, wenn jeder Kern mit einer Membran umgeben ist, werden die Verbindungsfäden weniger dicht, und die cytoplasmatischen Strahlungen sind gleichmässiger um jeden Kern vertheilt. Die vier Kerne, welche in ein völliges Ruhestadium eintreten, zeigen jetzt ein sehr bemerkenswerthes und interessantes Aussehen. Der Regel nach enthält der Embryosack von *Lilium Martagon* in diesem Stadium keine Vacuole, und die Kerne sind gewöhnlich wie in Fig. 15, Taf. II orientirt. Von der ganzen Oberfläche jedes Kerns gehen, wie die Strahlen der Sonne, zahlreiche Kinoplasmafasern in radiärer Richtung aus. Diejenigen derselben, welche gegen die anderen Kerne hin verlaufen, bilden Systeme von Verbindungsfäden, während die anderen direct nach der Hautschicht gehen. Hierdurch wird es bewirkt, dass alle vier Kerne untereinander und mit der Hautschicht in Verbindung stehen. Jeder Kern enthält ein oder mehrere Kernkörperchen; extranucleare Nucleolen liegen im Cytoplasma allenthalben zerstreut. Die Grundmasse des Cytoplasmas besteht aus einem Netzwerk, welches Mikrosomen und metaplasmatische Körnchen einschliesst. Die Achsen, die jedes Schwesterkernpaar verbinden, liegen schräg zu der Längsachse des Embryosacks. Die beiden oben links und die beiden unten rechts liegenden sind Schwesterkerne. Alle Kerne finden sich bei diesem Stadium in derselben Grösse. Der mehr der Mitte zu auf der linken Seite liegende Kern erscheint in meiner Zeichnung nur deshalb kleiner, weil der Schnitt nicht durch seine Mitte ging. Eine von Fig. 15, Taf. II abweichende Orientirung kann häufig angetroffen werden. Manchmal liegen drei Kerne sehr nahe beieinander in einem Ende des Embryosacks, und der vierte im entgegengesetzten Ende, während die Orientirung der Kinoplasmafasern annähernd dieselbe ist. Wenn der Embryosack im vierkernigen Stadium länger ist, liegt ein Kernpaar in jedem Ende, wobei eine Vacuole den mittleren Theil des Embryosacks einnehmen kann. In derartigen Fällen ziehen sich die Kinoplasmafasern, die jedem Paar zukommen, nicht zu dem im entgegengesetzten Ende liegenden Paare hin. Solch' eine Orientirung ist jedoch eine Ausnahme. Gewöhnlich zeigen die vier Kerne, sobald sie im Ruhezustande sind, die in Fig. 15, Taf. II dargestellte Anordnung. Beim weiteren Wachsthum verlängert sich der Embryosack immer mehr, und ein Schwesterkernpaar wandert in jedes Ende, noch versehen mit den Strahlungen und den Verbindungsfäden, während eine oder

mehrere grosse Vacuolen auftreten und zwar fast immer näher dem oberen Kernpaare.

III. Die dritte Kerntheilung.

Zwischen der zweiten und dritten Kerntheilung tritt eine beträchtliche Pause ein. Innerhalb dieser nehmen die vier Kerne an Grösse zu. Ein typischer Chromatinknäuel kann in jedem derselben sich ausgebildet haben, und unter günstigen Umständen ist es möglich, eine Längsspaltung des Fadens zu beobachten. Die beiden in dem Mikropylenende liegenden Kerne sind gewöhnlich oval oder ellipsoidisch; die beiden im Antipodenende werden viel grösser. Der untere von diesen letzteren passt sich gewöhnlich in seiner Form der des Embryosacks an, wobei er häufig halbkugelig erscheint, während der obere dieser beiden nicht selten abgeplattet ist.

Die Bildung der Spindel ist nicht unähnlich derjenigen, die bei der vorhergehenden Theilung aufgetreten war. Der Chromatinknäuel ist dicker und stärker. Während des Eindringens der Kinoplasmafasern wird er nicht contrahirt und bewahrt in Folge dessen mehr die typische Form des Kerns (Fig. 16 und 17, Taf. II). Die Kernwandung als solche verschwindet. Die Kinoplasmafasern bilden einen Filz um den Kern herum und dringen in seine Höhlung ein. In dem Stadium, welches in Fig. 17, Taf. II abgebildet wurde, verlaufen die Fasern, welche jetzt in die Kernhöhle eingetreten sind, meistens in derselben Richtung und parallel der Achse der zukünftigen Spindel. Rund um diese Spindelanlage hat sich oft eine Zone von körniger Substanz angesammelt. In Fig. 16 und 17, Taf. II kann man sehen, wie kleine Gruppen von Fasern convergiren, um Pole zu bilden. Später treten mehr Pole auf; doch sie sind weder sehr stark, noch ragen sie weit über die Grenze der früheren Kernmembran hinaus, besonders bei den unteren Kernen. Die Spindeln sind Anfangs stumpf (Fig. 19, Taf. II), wenigstens bei den unteren Kernen; später werden sie spitz (Fig. 18, Taf. II).

Die beiden unteren Kerne sind viel grösser als die oberen; ihre Chromatinfäden zeigen mehrere Windungen und sind daher viel länger; die Zahl der Chromosomen, in welche sie zerfallen, ist eine grössere. In Fig. 16, Taf. II ist ein Theil des Kerns dargestellt, der dem Ei- und einem Polkern den Ursprung giebt. Er schliesst mehr als die Hälfte des ganzen Chromatinknäuels ein, während der in Fig. 17, Taf. II wiedergegebene obere der beiden,

im unteren Theil des Embryosacks liegenden Kerne viel weniger als die Hälfte, wahrscheinlich nur etwas mehr als den dritten Theil des Chromatinknäuels enthält. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist der Chromatinfaden in diesem Stadium (Fig. 16 und 17, Taf. II) gar nicht in Segmente zerlegt. Dies geht vielmehr, wie oben bemerkt, erst während der folgenden Spindelentwickelung vor sich. Die freien Enden in den Figuren bezeichnen die Stellen, an welchen der Chromatinfaden durch das Messer zerschnitten wurde, da alle Figuren von Schnitten gezeichnet wurden.

Die fertige Spindel und die Gestalt der Chromosomen der beiden oberen Kerne weicht in Nichts von denselben Elementen in der vorausgegangenen Theilungsfigur ab. Die Zahl der Chromosomen scheint immer zwölf zu sein.

Von den zwei im Chalazaende des Embryosacks liegenden Kernen, kann der untere auffallende Eigenthümlichkeiten während der Theilung zeigen. Die Theilung des oberen von diesen beiden Kernen, welche einen Polkern und einen Antipodenzellkern liefern wird, ist vollkommen normal. Die Zahl seiner Chromosomen ist dagegen schwankend und kann 20 und mehr betragen. Der untere der beiden Kerne kann sich auch auf genau dieselbe Weise theilen mit der zugenommenen Chromosomenzahl (Fig. 19, Taf. II). Doch kann es öfters vorkommen, dass er sich gar nicht theilt, oder die Theilung des Chromatins kann sehr abnorm sein. Bei dieser abnormalen Art der Kerntheilung entwickelt sich das Kerngerüst nicht zum lockeren Knäuelstadium weiter. Dagegen ist eine karyokinetische Spindel wie in den drei anderen Kernen entwickelt, an welcher das Chromatin als eine unregelmässige Masse verschlungener Fäden liegt (Fig. 20, Taf. II). Die Anordnung der Kinoplasmafasern zur Spindel hat wahrscheinlich diese Orientirung des Chromatins bewirkt. Ein Theil des Chromatins wird nun nach jedem Pol befördert. Bei dieser Theilung erhält nicht jeder Tochterkern eine gleiche Menge Chromatin, vielmehr waren die Massen, wie ich beobachten konnte, welche nach den Polen wanderten, von sehr verschiedener Grösse.

Diese abnormale Art der Kerntheilung ist, abgesehen von ihrer sonstigen Bedeutung, deshalb interessant und belehrend, weil sie es wahrscheinlich macht, dass die Theilung des Chromatins allein durch die Spindelfasern bewirkt wird.

Was Miss Sargant[1]) kürzlich als directe Theilung bei den

1) l. c., p. 467.

hier in Frage stehenden Kernen beschrieben und abgebildet hat, ist somit keine amitotische Theilung in gewöhnlichem Sinne. Unter amitotischer Kerntheilung versteht man (und dies ist der Sinn, in welchem dieser Ausdruck auch hier gebraucht wird) eine einfache Durchschnürung oder Fragmentation des Kerns ohne die Bildung einer Kernspindel.

IV. Die Bildung des Eiapparates und die Vereinigung der Polkerne.

Wir können jetzt sofort unsere Aufmerksamkeit auf die vier Kerne im Mikropylenende des Embryosacks richten, von denen schliesslich drei den Eiapparat bilden werden.

Von den Forschern, welche in letzter Zeit das Verhalten der Kerne bei der Entwickelung des Embryosacks beschrieben haben, hat wohl Guignard[1]) am eingehendsten die Verhältnisse geschildert. In seiner Fig. 66 hat er vier freie Kerne im oberen Ende des Embryosacks abgebildet; in (l. c.) Fig. 67 erscheint jeder der drei, welche den Eiapparat bilden, zusammen mit einem Theil des umgebenden Cytoplasmas von einer zarten Haut umgrenzt, doch ist nichts über die Entstehung dieser Membranen gesagt, wie aus dem folgenden Citate aus Guignard's Arbeit, welche sich auf dieses Entwickelungsstadium bezieht, zu ersehen ist.

„Parmi les quatre noyaux occupant le sommet du sac (l. c. Fig. 66), il en est deux qui appartiendront, comme on sait, aux synergides, et qui sont frères; des deux autres, situés un peu au-dessous, l'un deviendra le noyau de l'oosphère, tandis que son congénère, restant libre, concourra à former le noyau secondaire du sac embryonnaire. Dès que les synergides et l'oosphère se sont entourées chacune d'une membrane d'enveloppe très délicate, ce noyau demeuré libre, que j'ai désigné jadis, ainsi que son homologue inférieur, sous le nom de noyau polaire, à cause de leur situation dans le sac embryonnaire, commence à grossir et à devenir plus chromatique que le noyau de l'oosphère dont il est pourtant le frère (l. c., Fig. 67 à 69)."

Die Ebenen, in welchen die Theilungen der beiden oberen Kerne sich vollziehen, liegen entweder parallel oder etwas schräg, oder auch rechtwinkelig zu einander. Im letzten Falle bilden die vier neu entstandenen Kerne eine Tetrade, während sie vorher fast

1) l. c., p. 188.

in derselben Ebene lagen. Wenn die Kerne eine Tetrade bilden, ist die Orientirung der Verbindungsfäden dieselbe wie in den Pollenmutterzellen. In Fig. 21, Taf. III bilden die Kerne eine Tetrade. Nur drei derselben sind auf dem Schnitte zu sehen. Diese Kerne sind miteinander durch Verbindungsfäden verbunden, während andere Fasern strahlig nach der Hautschicht und dem Innern des Embryosacks verlaufen. Dazwischen liegen Zellplatten, welche die drei Zellen des Eiapparats von einander und vom Polkerne, einem Schwesterkerne des Eikerns, trennen; jedoch ist an der der Embryosackhöhle zugekehrten Seite der Eizelle die Hautschicht noch nicht ganz ausgebildet. Das den Polkern umgebende Cytoplasma grenzt sich nicht durch eine Hautschicht ab, so dass hier keine freie Zelle entsteht.

Die strahlig angeordneten Cytoplasmafasern enden blind im Cytoplasma oder gehen unmerklich allmählich in sein Netzwerk über. Soweit es nachgewiesen werden konnte, wird die Hautschicht gerade so angelegt wie in den Pollenmutterzellen, nämlich vermittelst der Verbindungsfäden. Extranucleare Nucleolen sind bei allen Theilungen sichtbar; später verschwinden sie. In Fig. 22, Taf. III liegen alle Kerne fast in derselben Ebene, so dass wir eine andere Anordnung der Kerne vor uns haben. Wie leicht zu sehen ist, befinden sich die beiden Synergiden oben rechts. Die obere Synergide liegt etwas ausserhalb der Ebene, in der die anderen Kerne orientirt sind. Ihr Kern wurde in der Zeichnung des Medianschnitts nicht eingetragen. Es ist auch klar, dass der Kern, welcher den Synergiden den Ursprung giebt, etwas vor seinem Schwesterkern sich getheilt hat, welch' letzterer das Ei und den oberen Polkern lieferte. Die Fig. 22, Taf. III, welche ein späteres Entwickelungsstadium als Fig. 21 darstellt, lehrt auch, dass der Theil der Embryosack-Hautschicht, welchem wir bei der Anlage der neuen Zellplatten begegnet sind, theilweise die Membran jeder Zelle des Eiapparates bildet, denn alle diese Membranen sind lauter Hautschichten.

Nach den in Fig. 22, Taf. III angegebenen Verhältnissen ist es leichter zu verstehen, warum keine Hautschicht, welche den Polkern gegen den übrigen Embryosack abgegrenzt hätte, gebildet worden ist, wie es doch bei den drei anderen Kernen geschieht, als bei einer solchen Orientirung der Kerne, wie sie uns Fig. 21, Taf. III zeigt. Die Annahme dürfte nicht ungerechtfertigt erscheinen, dass hier auch eine Hautschicht gebildet, jedoch bald

wieder resorbirt wird, wenn auch auf einen solchen Vorgang hindeutende Bilder nicht beobachtet werden konnten.

Bei der ferneren Entwickelung nehmen die drei Zellen des Eiapparats die bekannte, oft abgebildete Form an. Doch mag noch bemerkt werden, dass diese Zellen nicht immer birnförmig sind. Die Synergiden können oft mehr oder weniger dreieckig erscheinen. Die Lage der Kerne und die Vertheilung der Vacuolen weisen manche Verschiedenheit auf. Diese Gestaltungsverschiedenheiten sind aber ohne besondere Wichtigkeit.

Der Eikern kann, wie Guignard[1]) schon angegeben hat, etwas grösser als die Kerne der Synergiden sein und enthält, wie diese, oft drei oder vier Nucleolen von verschiedener Grösse. Jeder Kern jedoch nähert sich mehr dem Ruhestadium.

Die Antipodenzellen werden auf ähnliche Weise, wie es für den Eiapparat angegeben worden ist, angelegt, aber in Folge des schon erwähnten eigenthümlichen Verhaltens des unteren antipodenständigen Kerns ist ihre Anordnung sehr veränderlich. Später werden die Antipodenzellen bald desorganisirt.

Der von der oberen Tetrade stammende Polkern bleibt oft in der Nähe des Eiapparates und ist viel kleiner als der Polkern von der Antipodentetrade. Anfangs ist jeder dieser Kerne mit einer sehr deutlichen Strahlung versehen. Sie können entweder beide aufeinander zu wandern, wobei sie sich nahe der Mitte des Embryosacks im Protoplasmawandbeleg treffen oder, wie es die Regel ist, der untere Kern durchwandert die ganze Strecke, was dann der Fall ist, wenn beide Kerne dicht aneinander geschmiegt nahe beim Eiapparat liegen. Jetzt sind die Strahlungen um die Kerne verschwunden und sie befinden sich im Ruhezustand. Ihre Vereinigung besteht in einer einfachen Verschmelzung des Inhalts beider, ohne dass Centrosomen oder Centrosphären vorhanden wären. Unter Umständen können, worauf ich später zurückkommen will, diese beiden Kerne sich gar nicht vereinigen, sie bleiben vielmehr dicht Seite an Seite liegen, bis beim Embryosack die Anzeichen einer Desorganisation auftreten.

Ein eigenthümliches Vorkommen, welches hierbei beobachtet wurde, dürfte nicht ohne Interesse oder ohne Werth sein. Auf dem Stadium, in welchem zwei Kerne in den entgegengesetzten Enden des Embryosacks liegen, oder gewöhnlich etwas später,

1) l. c., p. 189.

kann man eine oder mehrere runde, sehr dicht und gleichmässig körnige Massen im Cytoplasma bemerken, die mit Vorliebe Orange G. aufnehmen und Trophoplasmakörper genannt werden mögen. Diese Körper nehmen an Grösse zu und werden so gross, oder oft noch grösser als der untere Polkern, wobei sie nach und nach ihre körnige Beschaffenheit verlieren und eine gröbere Wabenstructur erlangen (Fig. 23, Taf. III). Später verschwinden sie vollständig.

Die Versuche, diese Körper zugleich mit dem Plasmainhalt des Embryosacks vermittelst Pepsin-Glycerin verdauen zu lassen, waren vergeblich. Es scheint, dass Protoplasmastructuren, welche mit Chromosmium-Essigsäure fixirt wurden, unverdaulich sind.

Im Verlaufe dieser Untersuchungen boten sich einige ungewohnte Fälle der Beobachtung dar. In drei oder mehr Samenanlagen konnte man zwei ausgebildete Embryosäcke nebeneinander liegen sehen. Einmal fanden sich drei Embryosackmutterzellen in einem jungen Ovulum beisammen, und zwar lagen dieselben nicht in derselben Längsebene, sondern sie waren im Dreieck angeordnet. Sie hatten alle dieselbe Grösse, zeigten sich vollkommen normal ausgebildet und viel grösser als die benachbarten Zellen des Nucellargewebes. In zwei Fällen folgte anscheinend eine Zelltheilung jeder Kerntheilung, da später der Embryosack mit einem achtzelligen Gewebe gefüllt war. Ob dieser Erscheinung irgend eine Bedeutung zukommt, mag eine offene Frage bleiben.

V. Die Kern- und Zelltheilung in der primären Embryosackmutterzelle von *Helleborus foetidus* L.

Die primäre Mutterzelle des Embryosackes von *Helleborus* entsteht aus einer einzelnen hypodermalen Zelle am Scheitel des Nucellus. Mit dem weiteren Wachsthum des Nucellus nimmt sie an Grösse zu und zwar besonders in der Länge, so dass sie später, wenn die Integumente erschienen sind, ebenso lang ist wie er. Der Kern, der sich später auf heterotypischem Wege theilen wird, nimmt gleichzeitig an Grösse zu, wird sehr umfangreich und liegt gewöhnlich in der oberen Hälfte der Zelle. Eine Beschreibung seiner Structur im Ruhezustand dürfte hier überflüssig sein. Die Entwickelung des Chromatinfadens im ruhenden Kern und seine Längsspaltung auf einem früheren Entwickelungszustande vollzieht sich

ebenso wie bei der ersten Theilung der Pollenmutterzelle, mit der einzigen Ausnahme, dass die Neigung des zarten Kernfadens, sich zu einem Klumpen zu contrahiren, nicht so gross zu sein scheint. Trotzdem geschieht eine solche Contraction oft. Der dicker gewordene Kernfaden läuft in fast regelmässigen Windungen an der Kernwandung entlang. Wenn der Chromatinfaden in seine sechszehn Chromosomen zerlegt ist, besteht jedes aus zwei Segmenten, die mehr oder weniger umeinander gedreht sein können. Die Chromosomen werden jetzt kürzer und dicker, bilden Ringe, Ellipsen oder sind manchmal zusammengeklappt, wenn sie an den Kernwandungen vertheilt zu liegen kommen. Die beiden Teile jedes Ringes oder jeder Ellipse sind sehr kurz, halbmond- oder bohnenförmig, so dass in Folge dessen der von ihnen umschlossene Raum sehr klein und eng wird, oder sie können so kurz werden und so nahe aneinander liegen, dass das ganze Chromosom wie ein dicker Klumpen aussieht (Fig. 29, Taf. III). Ein oder mehrere Kernkörperchen, welche einige Vacuolen einschliessen, sind vorhanden. Gewöhnlich bietet das Cytoplasma in diesem Stadium eine sehr lehrreiche Structur dar. Von der oberen und unteren Seite des Kerns verlaufen starke strahlig angeordnete Büschel von Kinoplasmafasern, und in dem unteren Theil der Zelle sind die Cytoastern[1]) oft sehr deutlich zu sehen. Das Cytoplasma bietet hier ein sehr schönes Netzwerk dar, welchem auch die Cytoastern angehören. Die Cytoastern sind, trotzdem man sie so häufig beobachten kann, nicht constant; ihren Ursprung verdanken sie Cytoplasmafasern, welche sich an bestimmten Stellen kreuzen. Manchmal kann man sehen, wie einige der radiär vom Kern aus verlaufenden Kinoplasmafasern unmerklich in das cytoplasmatische Netzwerk übergehen. Manchmal können die von der unteren Kernseite ausstrahlenden Fasern sehr lang sein und mehr als den halben Weg bis zum unteren Zellende durchlaufen.

Die Spindelbildung geht ebenso vor sich, wie es für andere heterotypische Theilungen geschildert wurde. Die fertige Spindel liegt in einem von Körnchen verhältnissmässig freien Raume. Ihre Fasern besitzen die gewöhnliche Orientirung. Die zur Kernplatte angeordneten Chromosomen haben dieselbe Form, wie bei der ersten Theilung der Pollenmutterzellen (Fig. 30, Taf. III). Wenn die Tochterchromosomen nach den Polen hin auseinanderweichen, ist

1) Mottier, l. c.

jedes kurz und dick nieren- oder bohnenförmig oder hat die Form eines kurzen gedrungenen V (Fig. 30, Taf. III); auch die Bildung der Tochterkerne vollzieht sich in der schon früher angegebenen Weise.

Gewöhnlich folgt auf eine Theilung des Kerns auch eine solche der Zelle, und die zwei entstehenden Zellen sind meistens von derselben Grösse, doch kann die eine grösser als die andere sein. Die Tochterkerne scheinen kein vollständiges Ruhestadium durchzumachen, die zweite Kern- und Zelltheilung folgt vielmehr schnell auf die erste wie in den Pollenmutterzellen. Beide Kerne theilen sich gleichzeitig nach dem gewöhnlichen Kerntheilungstypus. Auf diese Weise wird durch zwei aufeinander folgende transversale Theilungsschritte eine Reihe von vier Zellen gebildet, die von der primären Embryosackmutterzelle abstammen, eine für die Ranunculaceen wohlbekannte Thatsache.

Diese Anordnung der Zellen ist keineswegs immer dieselbe, denn die obere Zelle kann sich auch oft in schräger oder longitudinaler Richtung theilen. Dies ist zum Beispiel der Fall, wenn die untere der beiden von der ersten Theilung herstammenden Zellen grösser ist als die obere. Wenn eine sehr schräge Theilung in der oberen statt hat, besonders wenn die Ebene der neuen Zellwand in der Ebene des Schnittes, oder nur leicht gegen dieselbe geneigt liegt, wird der Beobachter oft zum Glauben verleitet, es wären nur drei Zellen aus der primären Embryosackmutterzelle hervorgegangen; ein Kern kann nämlich vollkommen den andern decken, oder auch im nächsten Schnitt liegen.

Häufig konnten bemerkenswerthe Abweichungen bei den Kerntheilungen in der primären Embryosackmutterzelle beobachtet werden. Manchmal scheint keine Zelltheilung unmittelbar auf die erste Kerntheilung zu folgen, wenn nämlich nach der zweiten Kerntheilung vier Kernanlagen zu sehen sind, die in einer geraden Reihe liegend, durch Verbindungsfäden miteinander zusammenhängen. In anderen Fällen können die vier Kerne im oberen Theile der Zelle liegen (Fig. 31, Taf. III), aber erst später werden die Zellwände angelegt. Dieses Bild ist lehrreich, indem es die eigenthümliche Anordnung der Verbindungsfäden zeigt, wenn die Zellplatten angelegt werden. Niemals konnten vier fast fertige Kerne ohne ein Anzeichen von folgender Zelltheilung angetroffen werden. Nach dem Verlaufe dieser zwei Theilungen in der primären Embryosackmutterzelle zu schliessen, scheint es ohne Zweifel, dass dieselbe mit der Pollenmutterzelle homolog ist.

Die untere der vier Zellen nimmt auf Kosten der drei oberen nach und nach an Grösse zu und entwickelt sich in bekannter Art und Weise zum Embryosack. Ihr Kern, der in das Ruhestadium übergeht, nimmt etwas an Grösse zu, und je ein grosses Büschel Kinoplasmafasern strahlt von seiner oberen und unteren Seite aus. Die drei folgenden Kerntheilungen wurden nicht ins Einzelne verfolgt, da sich theilende Kerne wegen des verhältnissmässig langsamen Wachsens des Embryosacks nur selten angetroffen wurden. Nach den Zuständen, welche ich fand, scheint es mir sehr wahrscheinlich, dass die Theilung hier auf homotypischem, also gewöhnlichem Wege erfolgt. Nach jeder dieser Theilungen treten die Kerne in das Ruhestadium ein.

Der Kern, der durch die Vereinigung der beiden Polkerne entstand, verbleibt eine Zeit lang im Ruhezustand, bevor er sich theilt, sein Chromatin zeigt das typische Gerüst des ruhenden Kerns.

Der befruchtete Eikern geht ebenfalls vollkommen in einen Ruhezustand über, in welchem er eine Weile vor den weiteren Theilungen, die den Embryo liefern, verharrt.

Ebenso wie für *Helleborus* angegeben wurde, vollzieht sich auch bei *Podophyllum* die Entwickelung des Embryosacks. Die erste Kerntheilung in der primären Embryosackmutterzelle ist heterotypisch. Die zur Kernplatte umgeordneten Chromosomen waren in allen beobachteten Fällen ringförmig oder ellipsoidisch. Die weitere Kernentwickelungsgeschichte wurde nicht verfolgt.

VI. Die Befruchtung.

Zum Studium der Befruchtung lieferten *Lilium Martagon* und *L. candidum* das Material. Sobald die Narben empfängnissreif waren, trug ich den Pollen von einem anderen Individuum derselben Art sorgfältig mit einem weichen Pinsel denselben auf. Um die Zeit, welche zwischen der Bestäubung und der Befruchtung verstrich, festzustellen, wurde das Material in bestimmten Intervallen fixirt, und zwar in je 18, 24, 36, 48, 54, 65, 72 und 96 Stunden nach der Bestäubung.

Der Schilderung des Befruchtungsvorgangs mögen hier einige Angaben über die Structur des Pollenkorns vorausgehen.

Das reife Pollenkorn enthält, wie bekannt, den vegetativen und den generativen Kern. Der generative Kern liegt in einer halb-

mondförmigen Plasmamasse, die durch eine leicht unterscheidbare Hautschicht umgrenzt wird, so dass sie als eine gesonderte Zelle zu betrachten ist. In dünnen, sorgfältig mit Flemming's Safranin-Gentianaviolett-Orange gefärbten Schnitten bildet diese halbmondförmige Plasmamasse einen schönen auffallenden Contrast zu dem übrigen Plasma des Pollenkorns. Sie färbt sich nämlich schön violett, während das übrige Cytoplasma des Pollenkorns, welches besonders den Orangefarbstoff aufnimmt, einen hellen bräunlichen Ton besitzt. Dieses Verhalten des Plasmaleibes der generativen Zelle zu den Farbstoffen verräth seine kinoplasmatische Natur. Im Cytoplasma der generativen Zellen können oft ein oder mehrere Körper beobachtet werden, die sich ganz wie extranucleare Nucleolen färben, was sie in der That auch sind. Zwei derselben können nebeneinander in der Nähe des Kerns oder getrennt an entgegengesetzten Seiten derselben liegen; schliesslich können sie beliebig in der halbmondförmigen Plasmamasse vertheilt sein. Wenn diese extranuclearen Nucleolen nahe am Kern liegen, könnte es einem unerfahrenen Beobachter den Anschein erwecken, als wären Centrosomen vorhanden.

Die Theilung des primären Kerns des Pollenkorns, durch welche der generative und vegetative Kern gebildet wird, geht nach dem Typus der vegetativen Kerntheilungen vor sich. Leider konnte die Theilung des generativen Kerns im Pollenschlauche nicht beobachtet werden, doch ist kein Anlass vorhanden, anzunehmen, dass dieselbe nicht auch auf homotypischem Wege erfolgt.

Achtzehn oder zwanzig Stunden nach der Bestäubung konnten zahlreiche Pollenschläuche im Griffelkanal gefunden werden, doch war noch kein Ende derselben bis zum Embryosack vorgedrungen, was erst 65 oder 72 Stunden nach der Bestäubung der Fall war. Der Inhalt des Pollenschlauchendes, wenn letzteres an der Mikropyle sich befindet, oder eben in den Embryosack eingedrungen ist, färbt sich gleichmässig dunkelroth, und keine unterscheidbare Structur kann in ihm erkannt werden; die Kerne erscheinen nur als rothe Körper. Der Pollenschlauch kann an der einen Seite der Synergiden in den Embryosack eintreten, was dann geschieht, wenn nur eine dieser Zellen nach und nach zu Grunde ging, oder auch zwischen denselben, wenn beide Zellen der Desorganisation verfallen sind. Der Einfluss, den der Pollenschlauch auf die Synergiden ausübt, giebt sich in einer Umwandlung ihres Inhalts in eine

dichte, homogene, sich gleichmässig färbende Masse kund. Ihre Kerne erscheinen, wenn überhaupt sichtbar, als rothe Flecke.

Bei *Lilium Martagon* wurde eine vollständige Vereinigung von männlichem und weiblichem Kern nicht beobachtet, und eine Prüfung mehrerer reifer Kapseln in vorgerückterer Jahreszeit zeigte, dass die Samen nicht normal gereift waren. Nur ein oder zwei einigermassen ausgebildete Samen konnten in mehreren Kapseln gefunden werden. Wir wollen die wahrscheinliche Ursache dieser Erscheinung später darlegen. Der männliche Kern konnte jedesmal in der Eizelle gefunden werden, wenn ein Pollenschlauch in den Embryosack eingetreten war. Er ist gewöhnlich kleiner als der Eikern, hat mehr oder weniger cylindrische Gestalt, ist nieren-, manchmal auch S-förmig gebogen und liegt im Allgemeinen dicht an dem Eikern, doch schien er niemals mit demselben zu verschmelzen (Fig. 25, Taf. III). Sein Chromatinfaden ist oft dicker und färbt sich tiefer roth' als der des Eikerns. Manchmal konnte man auch einen anderen, ähnlichen Kern beobachten, der in der Nähe eines der Polkerne lag. In der überwiegenden Mehrheit der Fälle, in denen die Befruchtung sich nicht vollzog, vereinigten sich die beiden Polkerne nicht, um den Endospermkern zu bilden. 96 Stunden nach der Bestäubung zeigte der Embryosack Anzeichen von Desorganisation. *Lilium candidum* dagegen, von welchem man für gewöhnlich annimmt, dass es unter normalen Umständen keine keimfähigen Samen zur Entwickelung bringe, lieferte Material zur Beobachtung normaler und vollständiger Befruchtung. Samen dieser Pflanze, die in verschiedenen Entwickelungsstadien zur Untersuchung gesammelt und fixirt wurden, enthielten vollkommen normale Embryonen und Endosperme. Die Narben dieser Species wurden bestäubt, und zwar sowohl mit eigenem Pollen, als auch mit dem *L. chalcedonicum* und *L. testaceum*. Ob ihr eigener Pollen oder der der anderen Species die Befruchtung vollzog, konnte natürlich nicht entschieden werden. Der männliche und weibliche Kern können zur Zeit ihrer Vereinigung (Fig. 24, Taf. III) ungefähr gleiche Grösse besitzen, doch ist der Eikern meist der grössere. In Fig. 24, Taf. III, welche den Act der Vereinigung beider Kerne zeigt, befindet sich jeder fast im Ruhezustand. Die Kernstructur zeigt ein feines Netzwerk, welches sich schwach violett, statt purpurroth färbt. Das befruchtete Ei enthält einen grossen ruhenden Kern, in dem keine Grenze zwischen dem männlichen und dem weiblichen Bestandtheil unterschieden werden kann. Wie Stras-

burger[1]) schon lange vorher gezeigt hat, kann der männliche Kern, nachdem er in die Eizelle eingetreten ist, an Grösse zunehmen, bevor er sich mit dem Kern der letzteren vereinigt. In dem Embryosack, dem die Fig. 24, Taf. III entnommen wurde, lag bereits eine Anzahl Endospermkerne im Plasmawandbeleg vertheilt. Ob Kinoplasma den männlichen Kern bis zum Eikern begleitet und bei der Befruchtung betheiligt ist, konnte nicht entschieden werden. Wenn der männliche Kern am Eikerne liegt, lässt sich ein besonders differencirtes Plasma, welches ihn begleitet hätte, nicht nachweisen. Das Schicksal des Kinoplasmas, welches, wie angenommen wurde, die generativen Kerne im Pollenschlauche begleitet, muss somit durch fernere Versuche klargelegt werden.

Aus der gegebenen Schilderung geht aber ohne weiters hervor, dass individualisirte Centrosomen mit dem männlichen Kerne in das Ei nicht eingeführt werden, da Centrosomen in den Pollenmutterzellen nicht existiren, so war ja auch von vornherein nicht anzunehmen, dass sie plötzlich beim Befruchtungsact auftauchen würden. Die auch für das Thierreich aufgegebene „Quadrille des Centres“ existirt ebenso wenig bei Pflanzen.

In Bezug auf das Verhalten des Kernfadenwerks und der Kernkörperchen während der Verschmelzung des männlichen und weiblichen Kerns giebt Guignard[2]) an: „Après avoir pris, comme on l'a vu, l'aspect d'un noyau ordinaire et attient un certain volume, un peu moindre en général que celui du noyau femelle, le noyau mâle commence à épaissir les replis de sa charpente chromatique; le nucléole unique ou les nucléoles qui s'étaient formés se resorbent. Toutefois, malgré l'aplatissement des noyaux sexuels l'un contre l'autre, on reconnaît entre leur charpentes chromatiques une ligne de démarcation, et, même après la disparition des nucléoles dans l'un et dans l'autre, cette limite est encore visible . . . Bientôt les enveloppes nucléaires disparaissent, mais le contour primitif des deux noyaux formant la masse commune se reconnaît encore à la périphérie. Les sucs nucléaires peuvent alors se mélanger, sans qu'il soit possible d'affirmer qu'aucun échange de substances solubles ne s'est produit antérieurement entre les deux noyaux. Mais aucune fusion ne se produit entre leurs éléments chromatiques figurés. . . .

---

1) Strasburger, Neue Untersuchungen über den Befruchtungsvorgang bei den Phanerogamen, 1884.

2) Guignard, l. c., p. 198—199.

Plusieurs fois, j'ai pu distinguer les deux groupes chromatiques du noyau mâle et du noyau femelle l'un à côté de l'autre. Celui qui appartenait au noyau mâle était un peu plus colorable que l'autre. A cet état, les segments chromatiques, dont on voyait quelques bouts libres dépasser çà et là le contour primitif des noyaux, ne pouvaient pas encore être contés".

Bei der normal verlaufenden Vereinigung der Sexualkerne von *Lilium candidum* wird, wie ich zuvor schon erwähnt habe, das (oder die) Kernkörperchen des generativen Kerns nicht aufgelöst oder resorbirt (Fig. 24, Taf. III). Die Kerne befinden sich im Ruhezustande; die Kernwandung verschwindet an der Berührungsstelle, und die Vereinigung ist so vollständig, dass nach vollendeter Befruchtung ein Unterschied zwischen männlichem und weiblichem Bestandtheil nicht mehr bemerkbar ist. Soviel man sehen konnte, färbten sich beide Kerne ganz gleich. Bei *Lilium Martagon* aber, wo die Sexualkerne, wie zuvor angegeben wurde, sich nicht vereinigten, zeigte der männliche Kern ein gleichmässigeres Chromatingerüst, welches sich tiefer roth färbte, während das weniger regelmässige des Eikerns mehr violett erschien. Dies war z. B. in dem in Fig. 25, Taf. III abgebildeten Objecte der Fall. Bei *Lilium candidum* fehlten alle Anknüpfungspunkte für die Annahme Guignards[1]), dass die eine Hälfte der Kernplatte bei der ersten Theilung der befruchteten Eizelle von dem männlichen, die andere von dem Eikern abstamme.

VII. Die Beziehung zwischen dem Blüthenstengel und der Zwiebel und das Ansetzen keimfähiger Samen.

Seit mehr als zwei Jahrhunderten ist es wohl schon bekannt, dass bei einzelnen Species von Liliaceen eine Beziehung zwischen Schaft und Zwiebel besteht, welche das normale Ansetzen keimfähiger Samen verhindert. In letzter Zeit wurde unsere Aufmerksamkeit wieder auf diese eigenthümliche Erscheinung durch Mittheilungen von Lindemuth[2]) und von Jost[3]) gerichtet. Lindemuth

1) l. c., p. 200.

2) H. Lindemuth, Ueber Samenbildung an abgeschnittenen Blüthenständen einiger sonst steriler Pflanzenarten. Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch., Jahrg. 14, Heft 7, p. 244, 1896.

3) Ludwig Jost, Ueber das Samensetzen an abgeschnittenen Blüthenstengeln sonst steriler Pflanzen. Botan. Zeitung, No. 2, 1897

beobachtete das Auftreten dieses Phänomens, wie es scheint, durch Zufall bei einigen Species von *Lachenalia luteola* Jacq, welche für das Herbar hergerichtet werden sollten. Er kommt durch mehrere Versuche zu folgenden Resultaten: „Aber trotz künstlicher, sorgfältigster Bestäubung, und trotzdem die Blüthen von Insecten, namentlich Bienen, die durch die geöffneten Thüren und Fenster Einlass fanden, besucht wurden, beobachtete ich bis zum Jahre 1895 nur taube Kapseln und unentwickelte Samen, kein einziges volles, keimfähiges Samenkorn. Nur an meinen trockenen Herbarexemplaren fand ich, meist nur einzeln in einigen Samenkapseln, eine sehr geringe Zahl, reifer keimfähiger Samen."

Lilium candidum, welches, wie allgemein angenommen, unter normalen Umständen keine Samen hervorbringt, wurde dazu dadurch gezwungen, dass man die Blüthenschäfte dicht an der Zwiebel abschnitt und sie in Wasser stellte. „Ich stellte im vorigen Sommer zwei Blüthenstengel von *Lilium candidum* L., die dicht an der Zwiebel abgeschnitten wurden, in Gläser, etwa 2—3 cm tief in Wasser und verfuhr ebenso mit einigen Blüthenständen der *Lachenalia luteola* . . . . . Von *Lilium candidum* L. gewann ich an beiden Stengeln zusammen drei Kapseln mit gut entwickelten Samen, während an den *Lachenalia*-Schäften einzelne Kapseln volle, oft zahlreiche Samen enthielten."

Nach den historischen Bemerkungen von Jost, in welchen mehrere Beispiele ähnlicher Art angeführt sind, scheint diese Erscheinung schon Conrad Gessner, 1577, bekannt gewesen zu sein, dessen Erklärung in etwas modificirter Form noch jetzt gilt.

Meine Erfahrungen, die ich betreffs *Lilium candidum* im Sommer 1896 sammelte, zeigen, dass für diese Pflanze die Regel zum wenigsten nicht ohne Ausnahme ist. Denn, wie schon auf den vorigen Seiten erwähnt wurde, fanden Befruchtung und Samenproduction auch unter normalen Verhältnissen statt, d. h. an Pflanzen, welche frei im hiesigen botanischen Garten wuchsen. *Lilium Martagon* jedoch, von welchem allgemein angenommen wird, dass es regelmässig Samen hervorbringt, scheint im hiesigen Garten dem für *Lilium candidum* beschriebenen Schicksal verfallen zu sein. Denn nicht nur hatte es keine Samen oder nur sehr wenige gereift, sondern es hatte in seinen Eiern sich nicht einmal eine Vereinigung von männlichem und weiblichem Kern vollzogen.

Ich konnte mit *Lilium Martagon* nicht die nöthigen Versuche anstellen, um festzustellen, ob Befruchtung und Samenproduction durch die von Lindemuth angewandte Methode erzielt werden könnten. Als ich die Mittheilung Lindemuth's zu Gesicht bekam, war die Entwickelung dieser Pflanze schon zu weit fortgeschritten. Es ist jedenfalls nicht unwahrscheinlich, dass auch bei *Lilium Martagon* unter Umständen die zur Samenproduction nöthige Nahrung von der Zwiebel aufgesogen wird, um als Reservestoff für das nächste Jahr aufbewahrt zu werden. In den Zellen des Nucellus konnte man zur Zeit der Befruchtung sehr wenig oder gar keine Stärke sehen, während die der Integumente und der Placenta ziemlich viel enthielten, ebenso viel als bei *Lilium candidum*.

Um das ganze Verhältniss völlig klar zu legen, werden weitere Untersuchungen jedenfalls erwünscht sein.

VIII. Die Kerntheilung in vegetativen Zellen.

Die hier beobachteten Thatsachen unterscheiden sich beträchtlich von den bisher veröffentlichten, dem Verfasser bekannten Angaben, besonders in Bezug auf die Spindelbildung. Eine kurze Schilderung des Kerntheilungsprocesses zum Zwecke des Vergleichs mit den vorhergehenden Untersuchungen sei hier gestattet. Die folgenden Bemerkungen beziehen sich auf *Lilium*-Arten.

In den vegetativen Zellen der wachsenden Samenanlage konnten fortwährend Kerne in den verschiedensten Theilungsstadien angetroffen werden, so dass jeder Schritt dieser Processe zur Beobachtung vorlag. Die Entwickelung des Chromatinfadens vom feinen Netzwerk des ruhenden Kerns an geht in derselben Weise wie bei der heterotypischen Theilung in Sexualzellen vor sich. Die Längsspaltung vollzieht sich schon auf einem sehr frühen Stadium der Kernfadenentwickelung, und zwar bevor dieser ein mehr homogenes, glattrandiges Aussehen im lockeren Knäuelstadium erhält. In günstigen Fällen kann man die zwei Reihen von Chromatinscheiben, die durch Spaltung einer einzigen entstanden sind, ohne Schwierigkeit erkennen; und in der That ist in den Stadien bis zur Spindelbildung die Längsspaltung des Chromatinfadens dauernd zu sehen. Zugleich zeigen sich die Segmente auch umeinander gedreht, eine Erscheinung, die sich noch zur Zeit, wo die Chromosomen zur Kernplatte angeordnet sind, vorfindet. Es mag die

Bemerkung beigefügt werden, dass die wachsenden Wurzelspitzen von *Allium cepa* und *Vicia faba* günstige Objecte zur Beobachtung derselben Erscheinung bieten.

Das Kinoplasma ist in viel beschränkterem Maasse als in den Sexualzellen derselben Pflanzen vorhanden und tritt weniger leicht durch Färbung hervor. In der Regel ist es nicht deutlich strahlig um den Kern angeordnet, sondern bildet einen zarten Filz, der dicht der Kernwandung anliegt. Manchmal ist dieser Filz so zart und so gleichmässig um den Kern vertheilt, dass die sorgfältigste Färbung nöthig ist, um ihn irgendwie sichtbar zu machen. Deshalb kann er leicht übersehen werden. Nicht selten fügt der Zufall jedoch, dass man neben dem Filz auch einige wenige radial verlaufende Fasern sehen kann. In einigen Fällen hat sich der Filz in grösseren lockeren Massen an verschiedenen Stellen am Kern angesammelt, wobei er mehr in die Augen fällt.

Das erste Anzeichen der Spindelbildung besteht in dem allmählichen Verschwinden der scharfen Umrisse der Kernwandung. Es ist sehr wahrscheinlich, dass letztere, wie ich schon früher angedeutet habe, in Spindelfasern umgewandelt wird. Die Kinoplasmafasern dringen jetzt in die Kernhöhle zwischen die Windungen des Chromatinfadens ein, der bis da noch nicht in die einzelnen Segmente zerfallen ist, und bilden eine mehrpolige Spindel. Während der weiteren Entwickelung bis zur typischen zweipoligen Spindel wird der Kernfaden segmentirt und die Chromosomen ordnen sich zur Kernplatte an. Die Kernplatte kann gemäss der Form der Zelle und der Lage der Spindel in derselben verschieden geformt sein. Die Chromosomen, von denen jedes aus zwei mehr oder weniger umeinander gedrehten Segmenten zusammengesetzt ist, liegen an der Spindel und zwischen deren Fasern, wobei ihre Längsachsen parallel mit der der Spindel verlaufen (Fig. 26, Taf. III). Sie sind gewöhnlich mit einem Ende an den Spindelfasern befestigt und liegen theils auf der einen, theils auf der anderen Seite der Aequatorialebene (Fig. 26, Taf. III), weshalb eine solche Kernplatte den Eindruck von auseinanderweichenden Chromatinsegmenten macht. Während der Metakinese werden die an den Spindelfasern befestigten Enden der Segmente zuerst auseinander gezogen, wobei die Kernplatte oft das Aussehen einer Menge verwirrt durcheinanderlaufender Chromosomen hat (Fig. 27, Taf. III). Die fertige Spindel kann jetzt spitz oder stumpf sein. Sie ist gewöhnlich spitz während der Anaphase. Die auseinander weichenden Segmente zeigen die

Gestalt gerader Stäbchen, die an einem Ende oft umgebogen oder gekrümmt sind (Fig. 28, Taf. III).

Ob vegetative Kerne in schnell wachsenden Geweben sich theilen können, ohne zuerst das vollkommene Ruhestadium durchgemacht zu haben, konnte nicht entschieden werden.

IX. Vergleich zwischen vegetativer und heterotypischer Kerntheilung.

Wir wollen jetzt die vegetative mit der heterotypischen Kerntheilung, wie sie uns bei den Pflanzen entgegengetreten ist, vergleichen und sehen, worin beide einander ähnlich sind und wodurch sie sich unterscheiden. Bei diesem Vergleich sollen alle theoretischen Betrachtungen betreffs dieses Gegenstandes vermieden werden, und wir wollen uns vielmehr nur an die durch directe Beobachtung gewonnenen Thatsachen halten.

Die Structur des ruhenden Kerns ist in beiden Fällen die gleiche. In beiden vollzieht sich auch die Entwickelung des dicker gewordenen Kernfadens und seine Längsspaltung auf dieselbe Art und Weise, nur ist bei der heterotypischen Form dieser Vorgang mit einem ausserordentlichen Grösserwerden des Kernumfanges verbunden, so dass der relative Grössenunterschied zwischen dem Ruhestadium und dem Stadium kurz vor der Spindelbildung bei dieser Form erheblicher ist als bei der vegetativen. In Beziehung zu der Grösse der Kernhöhle ist der Chromatinfaden zarter bei der ersten als bei der letzten. Bei der heterotypischen Theilung wird der Kernfaden oft mehr oder weniger durch Einwirkung der Reagentien zu einem Klumpen contrahirt, während bei der vegetativen Theilung eine solche Contraction des Kernfadens selten oder nie eintritt. Bei der heterotypischen Theilung liegen die Chromosomen immer längs der Kernwandung vertheilt oder in der Kernhöhle zerstreut, vorläufig bis zum Verschwinden der Kernmembran und zur Bildung der Spindel. Die Chromosomtheile bilden Ringe oder Ellipsen, oder können dicht zusammengeklappt aneinanderliegen, bevor sie sich zur Kernplatte anordnen. Bei der vegetativen Theilung ist der Chromatinfaden zur Zeit, wo die Kernwandung als solche verschwindet, und die Spindelfasern in die Kernhöhle eintreten, noch nicht in seine Segmente getheilt; die Chromosomen sind gewöhnlich entweder gerade oder nur

wenig gekrümmt. Die Chromosomen bei der heterotypischen Theilung von *Lilium* sind, soweit wenigstens als meine Beobachtungen reichen, an den Spindelfasern mit ihrer Umbiegungsstelle, oder in der Mitte zwischen den freien Enden befestigt.

Die auseinander weichenden Tochtersegmente besitzen V-Form. Bei der vegetativen Theilung sind die Chromosomen an oder nahe bei den Enden den Spindelfasern angeheftet und die sich trennenden Tochtersegmente besitzen die Form gerader Stäbchen, die manchmal an einem Ende leicht gekrümmt oder gebogen sind; selten sind sie wie ein breites U geformt. Rücksichtlich der Form und Anheftungsweise der Chromosomen können noch andere Variationen in beiden Typen angetroffen werden. Die sogenannten achromatischen Bestandtheile der Spindel sind fast gänzlich cytoplasmatischen Ursprungs. Die Lininfäden in der Kernhöhle tragen auch zur Spindelbildung bei. In beiden Fällen sind die Spindeln zuerst vielpolig, und werden nach und nach in die typischen zweipoligen umgewandelt.

X. Bemerkungen über die Reduction der Chromosomenzahl.

In Rücksicht auf die Wichtigkeit, welche die Frage nach der Reduction der Chromosomenzahl besitzt, die, wie jetzt allgemein bekannt, auf einer bestimmten Stufe im Lebenslauf so vieler Organismen eintritt, fühlten wir uns verpflichtet, derselben ganz besonders unsere Aufmerksamkeit zuzuwenden. Das Ergebniss war, dass in der Embryosackanlage der Phanerogamen wohl eine Reduction der Chromosomenzahl erfolgt, eine sogenannte Reductionstheilung aber nicht existirt.

Zunächst wollen wir uns im kurzen die schon geschilderten Thatsachen wieder vergegenwärtigen und sie im Einzelnen betrachten. Der Chromatinfaden des primären Kerns in der Embryosackmutterzelle von *Lilium Martagon*, dessen Theilung heterotypisch ist, zerfällt durch Quertheilung in zwölf Elemente oder Chromosomen, und weist somit der Regel nach genau die Hälfte der in vegetativen Zellen dieser Species vorkommenden Chromosomenzahl auf. Jedes Chromosom ist der Länge nach gespalten und meistens zusammengefaltet, und die beiden, durch die erste Theilung gelieferten Kerne erhalten zwölf vollkommen ähnliche, V-förmige Tochtersegmente. Die Nachkommen des oberen Kerns, unter denen sich schliesslich

auch der Eikern befindet, weisen während der Theilung constant zwölf Chromosomen auf. Der untere Kern dagegen, der aus der Geschlechtsbahn tritt, zeigt bei seinen Theilungen, soweit als diese noch in typischer karyokinetischer Weise sich vollziehen, eine schwankende, jedoch stets grössere Chromosomenzahl, als zwölf, nämlich 20, 24 oder noch mehr. Jede normale Kerntheilung im Embryosack von *L. Martagon* ist von einer Längsspaltung des Kernfadens begleitet[1]); es findet demnach eine Reductionstheilung nicht statt. So müssen wir denn schliessen, dass die reducirte Zahl der Chromosomen im primären Embryosackkern nicht durch eine Pseudo- oder Scheinreduction erhalten wird, sondern, dass eine wirkliche Reduction stattfindet, und zwar während des Ruhestadiums oder der langen Wachsthumsperiode vor der Quersegmentirung des Kernfadens.

Das plötzliche Auftreten der grösseren Chromosomenzahl im unteren Kern bei der zweiten Theilung setzt den Beobachter zunächst in Verlegenheit. Die sichtbare Ursache dieses Verhaltens, soweit sie, aus der directen Beobachtung sich ergiebt, beruht darauf, dass dieser Kern grösser wird als der obere, sein Chromatinfaden sich in zahlreichere Windungen legt, länger ist und wohl daher in eine grössere Zahl von Chromosomen zerlegt wird.

Bei *Helleborus* zeigt der primäre Kern der Embryosackmutterzelle, der sich nach dem heterotypischen Schema theilt, die reducirte Chromosomenzahl, nämlich 16. Die Theilung der Tochterkerne erfolgt kurz darauf nach dem gewöhnlichen Typus. Die Details bei dem Verhalten der Chromatinelemente in diesen Theilungen sind so schwer zu verfolgen, dass bestimmte Schlüsse aus ihnen nicht gezogen werden können. Doch scheint jeder Tochterkern, soweit es abgeschätzt werden kann, die reducirte Zahl der Chromosomen zu enthalten

In thierischen Zellen ist die heterotypische Theilung nicht unbedingt eine Vorbereitung zu einer Reductionstheilung; nach Haecker[2]) kann die heterotypische Kerntheilung während der ersten vier oder fünf Furchungstheilungen in den Zellen, welche direct an der Keimbahn liegen, anftreten. Bei Betrachtung der Haecker'schen

---

1) Diese Längsspaltungen hatte schon Guignard, l. c., und neuerdings auch Miss Sargant, l. c., p 468, behauptet; ich hoffe, dass meine Figuren sie nun endgiltig beweisen.

1) Haecker, Die Keimbahn von *Cyclops*. Archiv f. mikr. Anatomie, Bd. 49, 1. Heft, 1897.

Figuren muss man sich übrigens fragen, ob die von ihm beschriebenen Theilungen heterotypisch in dem Flemming'schen Sinne oder in dem von mir für Pflanzenzellen geschilderten sind.

Meves[1]) versichert, dass die Karyokinese in den zwei Reifungstheilungen der männlichen Sexualzellen von *Salamandra maculosa* heterotypisch bezw. homotypisch ist, wie es von Flemming beschrieben wurde[2]). Ferner ist er der Meinung, dass diese zwei Formen der Karyokinese nicht nebeneinander in jeder Spermatocytengeneration auftreten, wie Flemming feststellte; aber sie stellen immer Reifungstheilungen vor. Die frühere Ansicht Flemmings, dass die Tochterchromosomen in der heterotypischen oder ersten Reifungstheilung während der Anaphase sich längsspalten, und zwar bevor die Segmente die Pole erreichen, und dass diese Längsspaltung eine Vorbereitung zur zweiten Reifungstheilung ist, wird bestätigt. Diese Längsspaltung des Tochterchromosomen habe ich auch für *Triton* constatiren können. So scheint es denn, dass jede Möglichkeit, in diesem Falle eine Reductionstheilung anzunehmen, ausgeschlossen ist. Ob diese Theilungen, wie sie von Flemming beschrieben wurden, wirklich Reifungstheilungen sind, ob ferner diese Reifungstheilungen erst bei den folgenden Zellgenerationen stattfinden, was von v. Rath[3]) behauptet wird, das sind Fragen, welche die Zoologen beantworten mögen.

Uns musste es aber auch auffallen, wie ähnlich trotz mancher Unterschiede die Theilungsbilder sind, welche die Embryosackkerne, die aus der heterotypischen Theilung hervorgingen, mit dem zweiten Theilungsschritt in Pollenmutterzellen aufweisen. Wir hatten nicht ohne Widerstreben eine Reductionstheilung in den Pollenmutterzellen angenommen; jetzt überkamen uns neue Zweifel. In den Embryosäcken findet keine Reductionstheilung statt, ungeachtet die heterotypische Theilung ganz derjenigen in Pollenmutterzellen gleicht und die darauf folgenden Theilungen dem zweiten Theilungsschritt in den Pollenmutterzellen so ähnlich im Aussehen sich zeigen. In den Pollenmutterzellen waren die Bilder aber wesentlich complicirter, ihre Deutung aber hatte grosse Schwierigkeiten bereitet. Sollte

---

1) Meves, Ueber die Entwickelung der männlichen Geschlechtszellen von *Salamandra maculosa*. Archiv f. mikr. Anatomie, Bd. 48, 1896.

2) Flemming, Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle. Archiv f. mikr. Anatomie, Bd. 29, 1887.

3) v. Rath, Beiträge zur Kenntniss der Spermatogenese von *Salamandra maculosa*. Zeitschrift f. wiss. Zool., Bd. 57, 1893.

wirklich in der Deutung des Gesehenen jeder Irrthum ausgeschlossen geblieben sein? Jedenfalls empfanden wir bei der Wichtigkeit der Frage die Pflicht, die Sache nochmals in den Pollenmutterzellen zu prüfen. Wir haben neues Material in etwas abweichender Weise fixirt, auch neue Pflanzen herangezogen und hoffen, über den Gegenstand, an dem ich mit Professor Strasburger gemeinsam arbeite, demnächst weitere Mittheilungen machen zu können [1]).

Figuren-Erklärung.

Wo nicht anders bemerkt, beziehen sich alle Figuren auf *Lilium Martagon.*

Sie sind von 7,5—10 μ dicken Schnitten mit Hilfe der Abbe'schen Camera lucida, unter Anwendung der Leitz'schen homogenen Immersion $\frac{1}{16}$ und der Oculare 1, 3 und 4 gezeichnet.

Chromosmiumessigsäure-Präparate und Safranin-Gentianaviolett-Orange-Färbung.

Tafel II.

Fig. 1 u. 2. Längsschnitt durch die Embryosackmutterzelle. Fig. 1 zeigt den Kern, der sich noch im Ruhestadium befindet, umgeben von einem Filz von feinen Cytoplasmafasern. Fig. 2 stellt einen weiter vorgeschrittenen Entwickelungszustand vor; der Filz ist gröber und besitzt weite Maschen. Ein deutlicher Kernfaden ist vorhanden nebst zwei grossen Kernkörperchen und vielen kleineren nucleolenähnlichen Körpern.

Fig. 3. *Lilium candidum.* Auf demselben Entwickelungszustand wie Fig. 2; die dicken Cytoplasmastränge erscheinen verschieden angeordnet.

Fig. 4. Vielpolige Spindel bei der ersten Kerntheilung im Embryosack.

Fig. 5. Fertige Spindel bei der ersten Kerntheilung, die Chromosomen zur Aequatorialplatte angeordnet.

Fig. 6. Die auseinander weichenden Tochtersegmente an derselben Spindel.

Fig. 7. Die Tochterkerne kurz nach dem Erscheinen der Kernwandung. Die Verbindungsfäden sind in der Aequatorialregion sehr stark verdickt. Von jedem Kern strahlen Kinoplasmafasern in allen Richtungen bis zur Hautschicht aus. Der Büschel von Kinoplasmafasern im oberen Zellende, die nach einer Stelle der Hautschicht hin convergiren, stellt anscheinend den Rest des oberen Pols der früheren Spindel dar.

Zweite Kerntheilung.

Fig. 8. Bildung einer vielpoligen Spindel. Die Kernwandung ist verschwunden und der grösste Theil der Kinoplasmafasern ist in die Kernhöhle eingedrungen.

Fig. 9 u. 10. Spindeln vom oberen und unteren Kern; der Kernfaden ist noch nicht vollständig in Chromosomen zerlegt.

Fig. 11. Spindel vom oberen Kern; die Chromosomen sind zur Kernplatte angeordnet.

---

1) Das ist inzwischen an die Deutsche Botanische Gesellschaft geschehen.

Fig. 12. Dieselbe Spindel; Metakinese.

Fig. 13 u. 14. Spindel vom oberen resp. unteren Kern mit auseinander weichenden Tochterchromosomen.

Fig. 15. Embryosack mit vier Kernen (weitere Erklärung im Text, p. 136).

Dritte Kerntheilung.

Fig. 16. Spindelbildung im oberen Kern, welcher den Ei- und einen Polkern liefern wird. Die Kinoplasmafasern sind in die Kernhöhle zwischen die Windungen des noch nicht segmentirten Chromatinfadens eingedrungen.

Fig. 17 Dasselbe Stadium von dem oberen der beiden im Chalazaende des Embryosacks liegenden Kerne.

Fig. 18. Spindel vom oberen Kern, den Ei- und einen Polkern liefernd: Ende der Metakinese.

Fig. 19. Spindel vom unteren der beiden im Antipodenende des Embryosacks liegenden Kerne. Chromatinfaden nicht vollständig segmentirt.

Fig. 20. Abnormale karyokinetische Figur vom unteren der beiden im Antipodenende des Embryosacks liegenden Kerne.

Tafel III.

Bildung des Eiapparats.

Fig. 21. Drei Kerne von der oberen Tetrade. Rechts unten die Eizelle; links der Polkern. (Weiteres im Text.)

Fig. 22. Ein späteres Stadium als in Fig. 21. Alle vier Kerne liegen fast vollständig in der Schnittfläche. Rechts oben die Synergiden; links unten die Eizelle und der Polkern.

Fig. 23. Trophoplasmatischer Körper im Embryosack.

Befruchtung.

Fig. 24. *Lilium candidum.* Eizelle, die Vereinigung der Sexualkerne zeigend. Die Synergiden erscheinen als dunkle homogene Massen.

Fig. 25. Halbmondförmiger, männlicher Kern, dem Eikern anliegend.

Theilung vegetativer Kerne.

Fig. 26. Spindel mit abgestumpften Polen. Die Chromosomen sind zur Kernplatte angeordnet.

Fig. 27. Dieselbe Spindel, Metakinese.

Fig. 28. Spindelpole zugespitzt; die Chromosomen im Auseinanderweichen begriffen.

Helleborus foetidus.

Fig. 29. Oberer Theil der Embryosackmutterzelle. Zahlreiche Kinoplasmafasern strahlen vom unteren und oberen Theile des Kerns aus. Unten Cytoastern.

Fig. 30. Spindel bei der ersten Theilung der Embryosackmutterzelle; die Chromosomen im Auseinanderweichen begriffen.

Fig. 31. Vier Kerne im oberen Ende der Embryosackmutterzelle, die simultane Zellplattenbildung zeigend.

Bonn, den 20. März 1897.

Inhalt.

Seite

I. Die Entstehung der Embryosackmutterzelle und die Theilung des primären Kerns 1

II. Die zweite Kerntheilung 9

III. Die dritte Kerntheilung 13

IV. Die Bildung des Eiapparates und die Vereinigung der Polkerne . . . 15

V. Die Kern- und Zelltheilung in der primären Embryosackmutterzelle von *Helleborus foetidus* L. 18

VI. Die Befruchtung 21

VII. Die Beziehung zwischen dem Blüthenstengel und der Zwiebel und das Ansetzen keimfähiger Samen 25

VIII. Die Kerntheilung in vegetativen Zellen 27

IX. Vergleich zwischen vegetativer und heterotypischer Kerntheilung . . . 29

X. Bemerkungen über die Reduction der Chromosomenzahl 30

Figuren-Erklärung 33

Lebenslauf.

Geboren wurde ich, David Myers Mottier, in Patriot, Indiana (U. S. Amerika) am 4. September 1864. Nachdem ich meinen ersten Unterricht in der „Elementary“ und „High School“ erhalten hatte, liess ich mich im Jahre 1887 an der „University of Indiana“ immatriculiren und erwarb dort im Jahre 1891 das Diplom eines Baccalaureus artium. In demselben Jahre trat ich als „Instructor“ an derselben Universität ein, erwarb 1892 das Diplom eines Magister artium und wurde im folgenden Jahre zum „Associate Professor“ der Botanik ernannt. Im Jahre 1895 erhielt ich einen zweijährigen Urlaub und benutzte denselben, um von October 1895 bis jetzt, Mai 1897, in Bonn zu studiren.

Vorlesungen habe ich gehört bei den Herren Professoren Strasburger, Ludwig, Bender, Schenck und Noll.

Thesen.

1. Das von Heidenhain behauptete „Spannungsgesetz“ kann nicht für die Zellen der höheren Pflanzen Geltung haben.

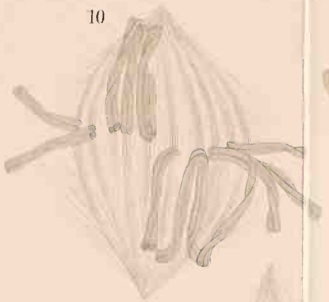
2. Die chalazogamen Dikotylen stellen nicht ein Bindeglied zwischen den Coniferen und den Dikotylen dar.

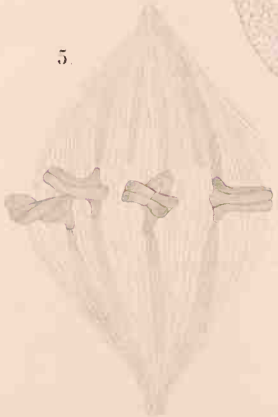
3. Bei den höheren Pflanzen entsteht die Kernspindel aus Kinoplasmafasern, unabhängig von Centrosomen oder Centrosphären.

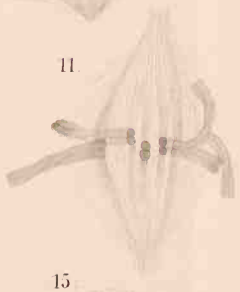
4. Bei den Siphoneen ist die Hautschicht bei Einwirkung äusserer Einflüsse, wie Schwerkraft und Sonnenlicht, der reizempfangende und reizauslösende Theil des Cytoplasmas.

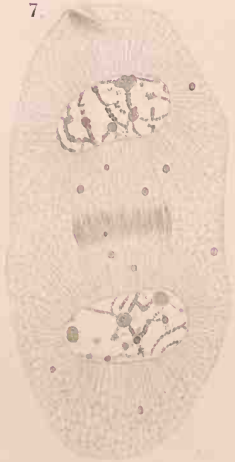
5. Bei Mimosa können Reize durch bestimmte Blatt- und Sprosstheile ohne Hilfe lebendiger Bestandtheile der Zelle fortgeleitet werden.

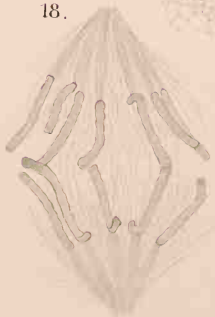
6. Das Kinoplasma und Trophoplasma bilden besonders differenzirte Bestandtheile des Zellplasmas.

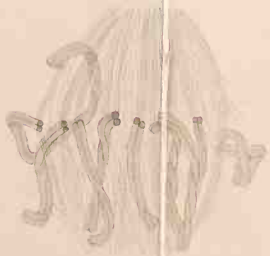


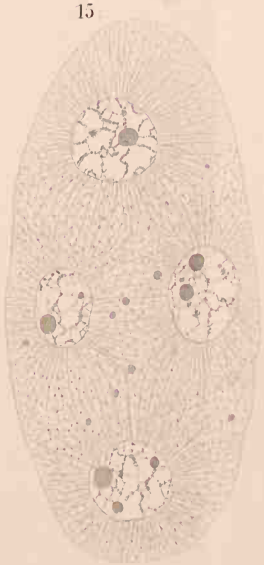






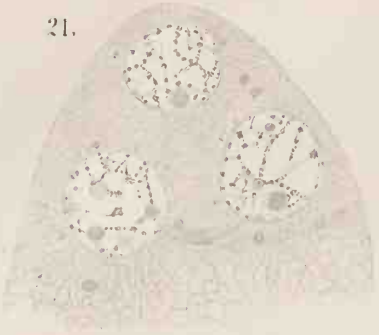




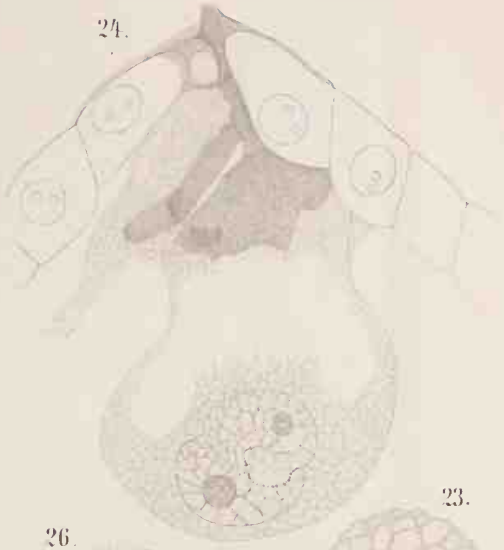


Lith. Anst. F.A. Brockhaus, Leipzig.

21.



24.



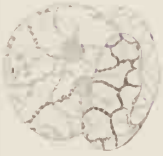
22.

23.

26.

27.

25.



29.

31.

30.

28.